

UNIVERSITE de CLERMONT-FD
FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE

ANNEE 1969

N°

20

THESE
POUR LE
DOCTORAT EN PHARMACIE

(DIPLOME D'UNIVERSITE)

par

HENRI Philippe Daniel
Pharmacien

né le 27 juillet 1938
à CLERMONT-FD (P.D.D.)

Présentée et soutenue publiquement le 21 avril 1969

ACTIVITE ENZYMATIQUE
COMPAREE CHEZ LES STAPHYLOCOQUES
ET POTENTIEL PATHOGENE

Président	: M. VAURS	Professeur
Membres du Jury	: M. TRONCHE	Professeur
	M. BASTIDE	Professeur
	M. CLUZEL	Professeur



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548623_0055

UNIVERSITE de CLERMONT-FD
FACULTE MIXTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE

ANNEE 1969

N°

THESE
POUR LE
DOCTORAT EN PHARMACIE

(DIPLOME D'UNIVERSITE)

par

HENRI Philippe Daniel
Pharmacien

né le 27 juillet 1938
à CLERMONT-FD (P.D.D.)

Présentée et soutenue publiquement le 21 avril 1969

ACTIVITE ENZYMATIQUE
COMPAREE CHEZ LES STAPHYLOCOQUES
ET POTENTIEL PATHOGENE

Président	: M. VAURS	Professeur
Membres du Jury	: M. TRONCHE	Professeur
	M. BASTIDE	Professeur
	M. CLUZEL	Professeur



UNIVERSITE DE CLERMONT
FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL
Assesseur : M. COULET

Doyen honoraire : M. CUVELIER
Directeur honoraire : M. MERLE
Professeurs honoraires : Mme BLANQUET,
MM. BUREAU, POMME

I - PROFESSEURS TITULAIRES

MM. BARRIER	Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	Clinique Obstétricale
BERGER	Chimie Analytique
BERGERON	Pathologie Médicale
COULET	Botanique et Microbiologie
CUVELIER	Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	Biochimie Médicale
DAUPHIN	Chimie pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	Anatomie Pathologique
FEBVRE	Pharmacie Galénique
GERMAIN	Clinique Chirurgicale B
GRAS	Clinique Médicale A
JACQUEMET	Technique Chirurgicale
JALLUT	Séméiologie médicale
LATAIX	Pathologie Chirurgicale
MERCIER	Anatomie
MEYNIEL	Biophysique médicale
MOLINA	Clinique Pneumo-ptisiologique
PETIT	Médecine légale et Médecine sociale
POROT	Clinique neurologique et psychiatrique

POURRAT	Matière médicale
M ^{le} RAMPON	Thérapeutique
ROUHER	Clinique ophtalmologique
TERRASSE -	Clinique médicale B
THIEBLOT	Physiologie
THOMAS	Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	Pharmacie chimique
TURCHINI	Histologie et Embryologie
VAURS	Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN - CLOG	Clinique médicale infantile

II - PROFESSEURS TITULAIRES A TITRE PERSONNEL

M. CHAMPEIX	Médecine légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	Electro-Radiologie

III - PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. ALFIERI	Biophysique Médicale
CLUZEL	Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	Physiologie
MENUT	Pédiatrie et Puériculture

IV - MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

M ^{le} CHATONIER	Chimie Minérale et Minéralogie
M ^{me} GAILLARD	Physique pharmaceutique
M ^{me} MOINADE	Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	Médecine générale
M ^{me} POURRAT	Botanique
M. VENRIES DE LAGUILLAUMIE	Anatomie pathologique

V - AGREGES

MM. FOURRIER	Orthopédie
HOUDARD	Chirurgie Générale
JANNY	Neuro-Chirurgie
RENARD	Pneumo-Phtisiologie
TOURNILHAC	Neurologie et Psychiatrie

VI - DELEGUES DANS LES FONCTIONS DE MAITRES DE CONFERENCES

MM. MALET	Histologie et embryologie
MARCHEIX	Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 juin 1956).

A MES PARENTS,
A TOUS LES MIENS,

Que ce travail soit un témoignage
de l'affection et de la reconnaissance
que je leur porte.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur VAURS

Professeur de Bactériologie et
Hygiène,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Commandeur des Palmes Académiques,
Officier de la Santé Publique.

Il nous a accueilli dans son
laboratoire avec beaucoup de bien-
veillance et nous fait le grand hon-
neur d'accepter la présidence de
cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici
l'expression de notre reconnaissance
et de notre profond respect.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur TRONCHE

Professeur de Pharmacie Chimique
Diplômé d'E.S. d'Ophtalmologie
Chevalier des Palmes Académiques

Il nous fait l'honneur de bien vouloir nous juger. Qu'il trouve ici le témoignage de notre respectueuse considération.

Monsieur le Professeur BASTIDE

Professeur de Chimie Biologique et de
Pharmacodynamie,
Pharmacien des Hôpitaux,
Chevalier des Palmes Académiques

Qu'il nous permette de lui témoigner notre profonde et respectueuse gratitude pour sa bienveillante collaboration.

Monsieur le Professeur CLUZEL

Professeur de Bactériologie
Biologiste des Hôpitaux
Chevalier des Palmes Académiques

Il nous a fait l'honneur de nous confier ce travail.

L'aide bienveillante qu'il nous a toujours accordée au cours de nos recherches nous a fait apprécier ses grandes qualités humaines et scientifiques.

Qu'il trouve ici l'expression de notre fidèle attachement et de notre gratitude.

INTRODUCTION

Tout concourt à faire des staphylocoques la préoccupation dominante de la pathologie infectieuse (31) : l'augmentation constante de la fréquence de ces souches journellement isolées au laboratoire, par rapport aux autres germes rencontrés dans les prélèvements systématiques de contrôle, ou pathologiques divers, leur intense pouvoir d'adaptation souligné encore récemment (14), leur caractère ubiquitaire (62). En effet, le staphylocoque est rencontré partout : dans les chambres des malades, dans les salles d'hôpitaux, dans le nez et sur les mains du personnel médical et du personnel soignant, chez les visiteurs, dans l'air ambiant (81), dans les blocs opératoires (80), dans les services chirurgicaux hautement spécialisés : chirurgie orthopédique (57), neurochirurgie (41), obstétrique, gynécologie (44), chez les grands brûlés (29).

La difficulté majeure qui subsiste réside dans la distinction entre staphylocoque pathogène et staphylocoque non pathogène. Des publications récentes (2, 14, 31, 62, 68, 70) ont essayé de préciser la valeur des critères actuellement utilisés pour cette différenciation. Il nous est apparu intéressant d'associer à l'étude biochimique classique de l'activité staphylo-

coccique, une étude enzymatique précise de quelques caractères de pathogénicité.

Le premier chapitre de cette étude traitera de notions générales sur le staphylocoque en insistant en particulier sur l'équipement enzymatique du staphylocoque pathogène.

Le deuxième chapitre sera consacré aux techniques utilisées dans notre travail pour rechercher, chez 154 souches de staphylocoques, la DNase, la coagulase, la modification du milieu de Chapman, les phosphatases acides et basiques, la modification du milieu de Baird Parker, et enfin la pénicillinase.

Le troisième chapitre réunira les résultats obtenus sous forme de tableaux : chez les souches coagulase + et autres caractères positifs ; chez les souches coagulase - et autres caractères négatifs et chez les souches présentant des caractères dissociés. La discussion sur la valeur de chacun de ces caractères mettra en évidence les difficultés qui subsistent encore dans ce domaine.

Enfin, nous avons essayé, lors des conclusions, de dégager quelques principes directement utilisables en pratique et permettant de considérer un staphylocoque comme pathogène ou non.

P L A N

INTRODUCTION

CHAPITRE I

- Les staphylocoques à potentiel pathogène et leur équipement enzymatique.

CHAPITRE II

- Matériel et Méthodes
 - . Matériel, origine des souches, COag. +, COag. -
 - . DNase
 - . Phosphatase
 - . Baird-Parker
 - . PNase

CHAPITRE III

- Résultats et Discussion
 - . Résultats :
 - Chez les coagulases + et autres caractères +
 - Chez les coagulases - et autres caractères -
 - Chez les dissociés
 - . Discussion

CONCLUSION

ABREVIATIONS UTILISEES

DNASE : Désoxyribonuléase

PNASE : Pénicillinase.

CHAPITRE I

LES STAPHYLOCOQUES A POTENTIEL PATHOGENE ET LEUR EQUIPEMENT ENZYMATIQUE

Historique -

C'est dix années à peine, après la bataille de Sedan, et la fin du II^e Empire, que le 3 mai 1880, Pasteur découvre dans le pus d'un furoncle, et décrit à l'Académie de Médecine : "un organisme formé de petits points sphériques, réunis par couples de deux grains, rarement par quatre, mais fréquemment associés en petits amas".

Un an plus tard, en 1881, cet "organisme" prenait, grâce à OGSTON, le nom de "Staphylococcus", vocable qu'il a toujours gardé depuis.

Il vit très bien chez l'homme dont il est l'hôte normal de la peau et de toutes ses cavités naturelles, cependant avec une affinité plus marquée semble-t-il, pour les voies aériennes supérieures, en particulier les fosses nasales.

Classification générale -

PREVOT le situe dans sa classification générale comme faisant partie de l'embranchement des schizomycètes,

du sous-embranchement des Eubacteria, de la classe Asporulales, de l'ordre des Micrococcales, comme étant de la famille des Micrococcaceae et de la tribu des Staphylococcées, et du genre Staphylococcus.

Bien que cette classification soit aussi claire que didactique, elle mérite cependant quelques précisions d'actualité. D'après le Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (7e édition), la famille des Micrococcaceae comprend quatre genres réunissant des aérobies, des anaérobies facultatifs et des anaérobies strictes, Micrococcus, Staphylococcus, Gaffkya et Sarcina.

Classification centralisée -

COWAN (28) propose de séparer les espèces anaérobies strictes, des genres micrococcus et staphylococcus. Celui de Sarcina comprend les espèces anaérobies.

Les Sarcina aérobies et les Gaffkya seraient incluses dans le genre Micrococcus.

Nous avons dans nos travaux adopté cette nouvelle classification proposée par COWAN (28) et reconnue par BAIRD PARKER (7) et qui est aussi celle employée par BUTTIAUX (II) et PILLET (70) : le genre Staphylococcus possède une catalase qui le différencie des Streptococcaceae qui en sont dépourvus ; il a un métabolisme respiratoire aéro-anaérobie facultatif, il fermente le glucose en anaérobiose.

Dans les produits pathologiques, il se présente sous la forme d'un coque sphérique de 0,8 à 1 μ de diamètre, groupé par deux (diplocoque), ou en courte chaînette de 4 à 6 éléments, ou en petits amas.

Il est immobile, dépourvu de spore et de capsule. Très souvent dans les cultures jeunes en bouillon, en plus des caractères nommés ci-dessus, il présente des groupements en grappe de raisin fort nombreux. Il reste coloré en violet par la méthode de Gram, mais il peut quand la culture est ancienne, présenter des éléments de teinte rosée dits Gram négatifs non négligeables à l'observation microscopique (14).

Depuis longtemps, son action est connue en pathologie infectieuse, et les affections qu'il provoque restent à juste titre redoutées.

Il est vrai, que durant une assez longue période, son rôle pathogène fut quelque peu minimisé, sauf dans de rares domaines bien particuliers comme les suppurations, les septicémies, et les intoxications alimentaires.

L'isolement d'un staphylocoque dans un prélèvement, et surtout d'un staphylocoque blanc, était bien souvent, trop souvent même, considéré comme une souillure par le bactériologiste et le clinicien.

Ce n'est que tout récemment, devant l'évidence des faits que le staphylocoque est redevenu un germe de premier plan (70) (59).

Très vite à l'ancienne notion de staphylocoque saprophyte s'est substituée celle de staphylocoque à potentialité pathogène. Bien que le pouvoir pathogène d'un staphylocoque ne puisse être défini avec rigueur qu'à posteriori, comme le signale fort pertinemment DU PASQUIER (36), la difficulté réside dans le qualificatif même de staphylocoque pathogène.

En effet, nombreux sont les auteurs qui semblent d'accord pour appeler staphylocoque pathogène, le "*staphylococcus aureus*", c'est le cas de BAIRD PARKER (8), CARUSO (22), GUILLOTTI (43), JARVINEN (46), KIRSTEN-ROSENDAL (73), LI (54).

D'autres dénomment "*Staphylococcus pyogenes*", le staphylocoque pathogène, comme AGARWAL (3) et KRYNSKI (53). Ce dernier vocable de *staphylococcus pyogenes* venant postérieurement à celui de staphylocoque aureus, a au moins l'avantage, selon COURTIEU (27), "de contenir en ses termes, l'illustration d'une manifestation de son pouvoir pathogène".

Pour BLAIR (15) et WILLIAMS (83), le qualificatif de *staphylococcus aureus* doit être pris au sens large, surtout en ce qui concerne la pigmentation. Bien que WILLIS et JACOB (84) y accordent un intérêt fondamental, cette pigmentation n'en reste pas moins variable et parfois même inexistante comme le soulignent

MOUSTARDIER, DESNUES et COLL (31).

Devant un tel dilemme, il restait à trouver un mode de classification s'affranchissant du critère de la pigmentation tout en ne l'excluant pas.

Un examen de l'équipement du staphylocoque en toxines et en enzymes permet d'applanir quelque peu cette difficulté. (18)

I - L'EQUIPEMENT EN TOXINES -

Les Staphylotoxines étudiées par BURNET, sont au nombre de trois. Il y a :

- les hémolysines
- les leucocidines
- les entérotoxines

1 - Les hémolysines dans lesquelles on distingue plusieurs types :

- * l'hémolysine α , active sur les hématies de mouton et de lapin, inactive sur les hématies humaines.
- * l'hémolysine β , beaucoup plus rencontrée chez les staphylocoques d'origine animale, est active sur les hématies de mouton, son activité sur les hématies de lapin est beaucoup moins nette.
- * l'hémolysine γ , est active sur les hématies du lapin, du rat, du cobaye et du mouton, son intérêt est secondaire.
- * l'hémolysine δ , est active sur les hématies de tous les mammifères, elle reste encore d'intérêt secondaire.

2 - Les leucocidines sont constituées de plusieurs substances (ARMANI G. (6) :

- * Une substance α toxique pour les globules blancs du lapin
- * Une substance δ toxique pour les globules blancs humains

* La leucocidine vraie, décrite par PANTON et VALENTINE, active à la fois sur les leucocytes de l'homme et du lapin dont elle lyse le cytoplasme.

3 - Les entérotoxines classées sérologiquement en plusieurs types : le type A et le type B sont bien connus. On travaille actuellement à déterminer les types C et D.

Parmi toutes ces substances, nous retiendrons celles qui ont un intérêt en physiologie et en pathologie :

. Dans le groupe des hémolysines :

L'hémolysine α et β qui toutes deux possèdent un triple pouvoir hémolytique sur le sang de lapin et de mouton, dermonécrotique et létal vis-à-vis du lapin et constituent un des principaux facteurs de troubles pathologiques observés dans toutes les infections à staphylocoque.

. Dans les entérotoxines :

Les types A et B, parce qu'ils sont mieux connus que C et D. Ils sont responsables d'intoxications alimentaires par leur thermostabilité, constituant ainsi un grave danger. PANTALEON J. et coll. (66).

Parmi ces substances toxiques, examinons maintenant celles qui présentent un intérêt comme critère de pathogénicité.

. Les hémolysines permettent de séparer (in vitro) sur gélose au sang de mouton ou de lapin, les souches de staphylocoques hémolytiques, de celles qui ne le sont pas.

Ceci n'exclut pas la possibilité d'une expérimentation in vivo sur le lapin pour rechercher une action dermonécrotique, ou une action létale. D'autre part, cette hémolysine est hautement antigénique et l'on peut titrer l'antistaphylolysine α dans le sérum des malades.

. Les leucocidines sont importantes par leur action sur les leucocytes de lapin, sur les leucocytes humains et les transformations nucléo-cytoplasmiques qu'elles créent, par leur pouvoir antigénique qui permet un dépistage sérologique à partir du sérum du malade.

. Les entérotoxines peuvent être caractérisées in vitro par précipitation avec un immun sérum correspondant, et in vivo chez l'animal. Sur le singe, après injection, on notera un syndrome gastroentérique caractéristique ; chez le jeune chat, après injection intra-péritonéale ou intraveineuse, on observera des vomissements et des diarrhées.

II - L'EQUIPEMENT ENZYMATIQUE DU STAPHYLOCOQUE -

Un certain nombre de substances non toxiques sont élaborées par le staphylocoque.

Citons : une catalase, une coagulase liée ou clumping factor, une coagulase libre, une DNase, une glucosidase, une mannitolase, une galactosidase, une glycérólase, une lactosidase, une lécithinase, une lipase, une hyaluronidase, une uréase, une gélatinase, une phosphatase acide, et une phosphatase alcaline, du lysozyme, une fibrinolysine, une décarboxylase, une déshydrogénase, une β lactamase.

Un certain nombre d'entre elles sont connues pour leur intérêt en physiologie et en pathologie (9)

. Les coagulases :
avec, en particulier, la coagulase libre ou coagulase reacting factor, celle-ci permet au germe de s'entourer de fibrine, le mettant à l'abri de la phagocytose, donc des défenses naturelles de l'organisme.

. La fibrinolysine :
Si le foyer infectieux n'est plus assez favorable à la bactérie, il y a production de cet enzyme par le germe qui détruit la fibrine permettant une répartition du staphylocoque dans les tissus sains voisins.

. L'hyaluronidase :
Elle complète et achève l'action de la fibrinolysine ; élaboré par le germe cet enzyme permet l'hydrolyse de l'acide hyaluronique véritable ciment cellulaire du tissu conjonctif, "elle favorise la dissémination du germe par voie lymphatique jusqu'au tronc veineux avec création d'une thrombose toujours possible et départ

de septicopyohémies et de localisations organiques " (MOUSTARDIER III).

. Les β lactamases ou penicillinases :
sont responsables de la plupart des phénomènes de résistance aux pénicillines, celles-ci ayant un noyau lactame. Ainsi, la pénicilline G donne, par ouverture du noyau, de l'acide pénicilloïque inactif.(32)

Certaines présentent un intérêt dans la présumption in vitro du pouvoir pathogène.(1) (13).

. La coagulase libre :
La mise en évidence de la présence de cet enzyme est illustrée par le test dit de la staphylocoagulase (cf. chapitre II). Ce test est un critère de valeur unanimement reconnu (P. DESNUES et G. MOUSTARDIER et COLL (31), bien que LI et KAPRAL (54) notent qu'ils n'ont pas toujours trouvé une bonne corrélation entre la production d'une coagulase et la virulence des staphylocoques.

. La mannitolase :
Sa recherche s'effectue sur le milieu de Chapman. En effet, l'attaque du mannitol n'est pas spécifique en aérobiose, car un pourcentage non négligeable de staphylocoques coagulase-oxydent le mannitol et qu'à l'opposé, certains staphylocoques coagulase + ne l'oxydent pas.

Selon DESNUES (31) et EVANS (38), cette recherche ne doit pas être uniquement pratiquée par voie oxydative. Déjà, en 1947, EVANS (38) préconisait d'opérer en anaérobiose. Plus tard, BAIRD PARKER, en 1963, nous montre que l'on peut éliminer le sous groupe XI des staphylocoques qui, selon lui, sont des germes saprophytes n'attaquant le mannitol que par voie oxydative exclusivement.

Désormais, pour BUTTIAUX (II) et PILLET (69), l'attaque du mannitol doit être conduite préférentiellement en anaérobiose et d'une manière systématique.

. La DNase :
Sa présence est considérée comme un élément de grande

valeur. Certains auteurs comme MALMBORG (55), DI SALVO (33), WECKMAN et CATLIN (81), JACOBS et WILLIS (45), ont constaté un parallélisme étroit avec l'élaboration d'une coagulase. Bien que sa recherche ne soit pas encore devenue un test de routine, il ne tardera plus à le devenir. BUTTIAUX (II) en fait le critère majeur de tous les tests de pathogénicité.

. Les phosphatases :

Leur présence demeure une indication du pouvoir pathogène. Pour BARBER et KUPER (12), CAPOCACCIA (20), CARASSUS (21), KARAKASEVIC et COLL (50), WHITE M.L. et PICKETT Ph. D. (82), il existe une concordance très satisfaisante avec la coagulase et d'autres critères de pathogénicité, opinion qui sera quelque peu tempérée selon MOUSTARDIER, pour qui la recherche de cet enzyme ne fournit qu'un indice précieux d'orientation.

. La lécithinase :

Elle est recherchée sur milieu à base de jaune d'oeuf. Le milieu peut être liquide (40), mais il est préférable comme l'a démontré BAIRD PARKER (10), d'opérer sur milieu solide. Le milieu utilisé est celui de BAIRD PARKER. CLUZEL et COLL (26), dans un travail antérieur, ont pu mettre en évidence un parallélisme notable entre ce test et celui de la coagulase.

. La lipase :

Elle fit l'objet de nombreuses études (74), (75), (78), (79). Recherchée sur milieu solide au Tween 80 (75), cet enzyme se manifeste par une zone de précipitation autour de la colonie. MOUSTARDIER note une étroite corrélation entre les activités lipasique et lécithinase (III), (62).

. La fibrinolysine :

Elle est mise en évidence sur gélose nutritive, enrichie en plasma. Les colonies positives se signalent par une zone d'éclaircissement au niveau de laquelle la fibrine a disparu (III).

. La gélatinase :

Elle est mise en évidence sur milieu de Frazier après avoir ajouté du bichlorure de mercure au milieu. On

note une zone d'éclaircissement autour des colonies gélatinase +, d'intérêt très relatif (III) : les staphylocoques coagulase - dans un fort pourcentage sont aussi gélatinase +.

. L'uréase :

Son absence ou sa présence ne semble pas devoir être retenue comme critère de pathogénicité, les résultats étant trop contradictoires (53), (III).

. le lysozyme :

La recherche de cet enzyme n'est pas encore passée dans la pratique courante; pourtant certains auteurs anglosaxons (46), (58), (4), semblent lui attribuer une place prépondérante parmi tous les critères de pathogénicité. Pour GROGZGEBAUER (42), la recherche de lysozyme, si elle est positive, rend superflue la recherche de la coagulase.

. Les β lactamases (23) :

Leur rôle dans la résistance aux antibiotiques n'est plus à démontrer. Cependant, ce groupe d'enzymes est l'objet d'incessants travaux, en particulier, tout dernièrement CHABBERT et COLL (24), ont pu montrer que la transmission de facteurs inducteurs des β lactamases était de nature extra-chomosomique chez les entérobactéries et les staphylocoques en particulier.

La recherche de ces enzymes ne semble pas être d'un grand secours dans le dépistage du rôle pathogène du staphylocoque, puisque bon nombre de staphylocoques à coagulase négative possèdent la propriété d'hydrolyser la pénicilline. Cependant, elle n'en garde pas moins une précieuse indication de statistique.

III - SEROTYPIE - LYSOTYPIE -

Dans l'approche de l'identification d'une souche de staphylocoque, on a utilisé l'agglutination au moyen d'immuns-sérums de lapin, ou sérotypie.

Grâce à cette méthode immunologique qui s'appuie sur la structure antigénique du staphylocoque, (tout staphylocoque renferme un antigène polysaccharidique A et un antigène protéique A), il est possible de

caractériser 18 sérotypes de staphylococcus aureus ; c'est dans les trois premiers (I, II, et III Cowan) que l'on rencontre la majorité des souches pathogènes humaines. Malheureusement, cette méthode ne permet pas d'affirmer le potentiel pathogène d'une souche.

La lysotypie dont on sait le très grand intérêt en épidémiologie représente un caractère très important, car 90 % des souches (64) possédant une coagulase ont été sensibles aux bactériophages. Cette méthode qui repose sur l'action éventuelle de 22 lysats spécifiques répartis en quatre groupes, mériterait un plus large emploi selon PILLET (69). Mais elle n'est pas utilisée couramment, l'entretien des lysats nécessitant l'emploi d'un personnel très qualifié.

La sérotypie et la lysotypie restent donc, à l'heure actuelle, des méthodes qui ne sont utilisées que d'une manière accessoire dans la détermination du potentiel pathogène d'un staphylocoque (III).

Nous avons recensé rapidement le volumineux appareillage enzymotoxique du staphylocoque à la lumière duquel nous pouvons envisager une classification pratique et rationnelle. Pour notre part, nous avons adopté celle de PILLET qui divise les staphylocoques en deux groupes.

. Staphylocoques pathogènes (70) :

Germes élaborant des substances caractéristiques, (coagulase), toxines α , β et δ , leucocidines, entérotoxines) et possédant un équipement enzymatique très complet, (protéase, glucidase, lipase, phosphatase, DNase, lécithinase, hyaluronidase, lysozyme, etc...)

In vivo, ces staphylocoques sont capables de provoquer expérimentalement des lésions chez l'animal, celui-ci étant choisi en fonction des lésions que l'on veut étudier : septicémie et péritonite chez la souris, chez le lapin : action dermonécrotique, chez le singe : étude de l'entérotoxine.

. Staphylocoques non pathogènes :

Germes n'élaborant pas les substances caractéristiques citées précédemment et présentant un équipement enzymatique apparemment plus réduit et ne provoquant pas de lésions in vivo.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

Les souches de staphylocoques étudiées ont été isolées de produits pathologiques divers (tableau I) au Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHU de Clermont-Ferrand.

TABLEAU I
PROVENANCE ET REPARTITION DES SOUCHES

	Nombre	%
HEMOCULTURE	9	6
PUS	55	36
URINES	11	7
SELLES	18	10
TRACTUS-RESPIRATOIRE (exsudats pharyngés, expectorations)	14	9
CONJONCTIVITE	47	32
	154	100

Elles ont été réisolées en série six fois pour s'assurer formellement de leur pureté.

Pour toutes les souches nous avons systématiquement recherché :

- 1 - La présence d'une catalase (27)
- 2 - L'élaboration d'une DNase (II) (48)
- 3 - La fermentation en anaérobiose, du mannitol en milieu de Chapman (II).
- 4 - La production d'une coagulase libre, active sur plasma de lapin, après ensemencement sur bouillon pour staphylo-coagulase de l'I.P.(II).
- 5 - L'élaboration de phosphatases acides (II) et basiques (21)
- 6 - L'aspect caractéristique sur le milieu de Baird Parker au jaune d'oeuf (26) (47)
- 7 - La présence de pénicillinase (14 a).

RECHERCHE DE L'ACTIVITE DNASIQUE

L'élaboration d'une désoxyribonucléase a été testée selon la technique décrite par BUTTIAUX (II).

Principe -

La DNase staphylococcique dépolymérise le DNA contenu dans un milieu de culture spécial. Cette dépolymérisation est mise en évidence par une solution d'HCL normal, ou par une solution de bleu de toluidine.

Mode opératoire -

Le milieu que nous avons utilisé provient de B.B.L.* ; il répond à la formule suivante :

ADN	2 gr
Trypticase (B.B.L.)	15 gr
Phytone (B.B.L.)	5 gr
CLNa	5 gr
Eau distillée (q.s.p.)	1000 gr

Faire fondre au moment de l'emploi ce milieu au Bain-marie bouillant ; attendre que la température redescende vers 45° à 50° pour le couler en boîtes de Petri.

Sensibilisation des souches : chaque souche à étudier est repiquée 24 heures à 37°C sur bouillon brain-heart Difco, de façon à exhalter la faculté DNasique (30). A l'aide d'une pipette Pasteur, on prélève au fond du tube par capillarité, une effilure de pipette (dans le dépôt de la culture de staphylocoque) ; on ensemence à la surface du milieu solide, en stries radiées, à partir du centre de la boîte de Petri, à raison d'une strie par souche. Six d'entre elles peuvent être examinées simultanément sur une même boîte. On fait incuber 24 heures à l'étuve à 37°C.

* Milieu DNase est du DNase Test Medium 5 1742. de Baltimore Biological Laboratory, Baltimore-Maryland-U.S.A. représenté en France par B.D. MERIEUX.

On verse alors à la surface du milieu une solution d'HCL normal, ou bien une solution aqueuse de bleu de Toluidine à 0,1 %.

La production d'une DNase par une souche se manifeste soit par une zone transparente autour de la strie si HCL a été choisi (HCL 1/N précipite le DNA du milieu sauf s'il a été dépolymérisé), soit par une coloration rose violacée autour de la strie si c'est le bleu de toluidine qui a été retenu.

La lecture se fait dans les cinq minutes qui suivent la mise en place du révélateur.

Pour notre part, nous avons utilisé les deux réactifs HCL et bleu de toluidine. Nous n'avons pas noté de discordance de résultat tout au long de notre étude. Cependant, notre choix s'est porté sur le bleu de toluidine comme indicateur pour deux raisons :

- commodité de lecture
- facilité de reproduction de la réaction en photographie couleur.

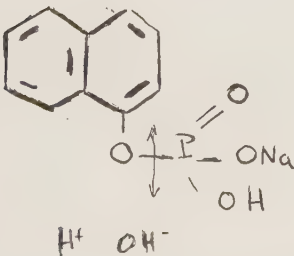
RECHERCHE DE L'ACTIVITE PHOSPHATASIQUE ACIDE

Nous avons utilisé la technique préconisée par BUTTIAUX. Celui-ci adapte à la recherche de la phosphatase acide staphylococcique, la méthode de WARNER CHILCOTT pour le dosage de la phosphatase acide du sang.

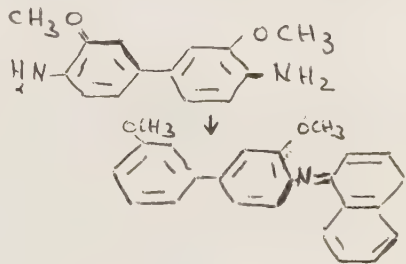
Principe -

En présence d'une phosphatase et en milieu acide $\text{ph} = 5$, l' α naphthyl phosphate acide sodique est hydrolysé avec libération dans le milieu réactionnel d' α naphthol ; ce dernier est copulé à une amine, ici l'orthodianizidine bis diazotée, l'ensemble prenant une teinte rouge grenat immédiate.

α naphthyl phosphate acide sodique



orthodianizidine



composé coloré
en rouge-grenat

Mode opératoire -

Les produits chimiques utilisés* sont :

* Produit par : General diagnostics division
WARNER CHILCOTT Laboratories div.
Morris Plains N.J.

Distribué en France par : PRECIBIO

2, rue Lhomard - PARIS Ve

- 1 - phosphatase acid substrate = α -naphthyl phosphate
acide sodique
- 2 - color developer = orthodianizidine bis diazotée

Dans un tube à hémolyse contenant 0,5 ml d'eau distillée on pulvérise à l'aide d'un petit agitateur de verre, un comprimé de substrat à l' α naphthyl phosphate acide sodique. Dans cette suspension, émulsionner une culture de 24 h sur milieu solide de la souche à étudier que l'on aura fait pousser sur gélose à la tryptone.

Incuber 30 mn à 37° C à l'étuve.

Introduire un comprimé de révélateur (orthodianizidine), le pulvériser à l'aide d'un petit agitateur en verre.

Une réaction phosphatase positive se traduit par une coloration rouge grenat immédiate.

Une réaction négative : le milieu reste de sa teinte jaune initiale.

On peut, si l'on veut, faire un témoin :

Dans un tube à hémolyse mettre 0,5 ml d'eau distillée et y pulvériser le comprimé de substrat ; y ajouter un comprimé de révélateur que l'on pulvérisera de la même façon que le premier, on doit avoir une coloration jaune clair persistante.

RECHERCHE D'UNE PHOSPHATASE ALCALINE

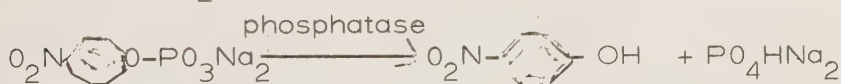
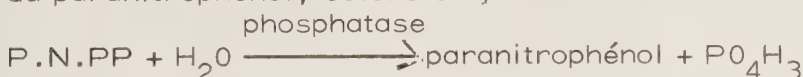
Nombreux sont les auteurs des méthodes de recherche de la phosphatase, qui ne précisent pas s'il s'agit d'une phosphatase acide ou alcaline. Le fait fut signalé par CARASSUS et COLL (21);

Il était intéressant de vérifier si le résultat de nos expériences recoupait ou non les siens. De plus, la méthode employée par CARASSUS avait le désavantage d'utiliser un milieu de culture contenant dans ses composants une quantité notable de phosphate monopotassique et de phosphate dipotassique, ce qui est toujours contestable quand on veut rechercher une phosphatase quelconque.

Nous avons utilisé une technique décrite par BAUDON et BASTIDE (16 a) que nous avons modifiée en nous inspirant des travaux de CARASSUS.

Principe -

Le paranitrophényl phosphate, incolore, libère à 37° C par hydrolyse du groupement phosphate, du paranitrophénol, coloré en jaune en milieu alcalin.



sel sodique du P.N.P.P.

P.N.P.

Réactif -

P.N.P.P.* disodique en solution à 1 % dans l'eau distillée à préparer extemporanément.

* P.N.P.P. vient de chez Sigma Chemical Company
Tampon Tris. M.ref. A.58095 puriss.p.a. de Fluka.
2 Mercaptoethanol A.55373 puriss p.a. de Fluka.

Tampon Tris* (M.) (2 amino, 2 hydroxyméthyl, 2 propane diol. 1,3 contenant 10^{-3} de mercaptoéthanol)
HCL pour ajuster à pH 8
Soude normale.

Technique -

A une suspension dense du germe dans 0,6ml de tampon Tris, à partir d'une culture sur gélose, on ajoute 0,4 ml de la solution à 1 % de P.N.P.P. ; on incube à 37° C pendant 30 minutes ; on ajoute 1 ml de soude normale.

Si une coloration jaune apparaît, la réaction est positive.

RECHERCHE D'UNE ACTIVITE LECITHINASIQUE SUR MILIEU DE BAIRD-PARKER (10)

Principe -

Sur un tel milieu les staphylocoques pathogènes se distinguent par deux caractéristiques :

1^o - Après 24 heures d'étuve à 37° C, les colonies sont noires, brillantes, convexes, de 1 à 1,5 mm de diamètre, entourées d'une auréole transparente de 2 à 5 mm de diamètre, due à l'attaque enzymatique du jaune d'oeuf (quelquefois, cet éclaircissement ne se produit qu'après 36 heures). Cette zone d'éclaircissement relèverait d'un mécanisme non encore élucidé (lipolyse ou protéolyse).

2^o - Après 48 heures, et cette notion de temps est capitale, il peut se produire, à l'intérieur de cette zone claire, une zone opaque de précipitation secondaire, au contact de la colonie (effet probablement dû à une lipase ou une lécithinase) (26). L'ensemble donne alors un aspect en cocarde.

Les Staphylocoques saprophytes (à DNase- et coagulase -) peuvent occasionnellement pousser sur ce milieu, mais produisent rarement un éclaircissement. Lorsque c'est le cas, les colonies sont plus irrégulières et donnent en 24 heures de larges zones opaques, à l'intérieur de la zone d'éclaircissement.

Les micrococci peuvent parfois pousser en donnant de petites colonies brunes ou noires mais sans éclaircissement. De même, les levures peuvent pousser et former des colonies blanches sans éclaircissement. Enfin, quelques espèces de Bacillus peuvent se développer sur le milieu avec parfois un éclaircissement en plus de 48 heures, mais ces colonies sont d'un brun sombre et mates.

Mode opératoire -

Le milieu de Baird-Parker utilisé* répond à la formule suivante :

* Milieu Oxoid CM 275

- Tryptone (1)	10 gr
- Extrait de viande de boeuf (2)	5 gr
- Extrait de levure (3)	1 gr
- Chlorure de lithium (4)	5 gr
- Pyruvate de sodium	10 gr
- Glycine	12 gr
- Agar	20 gr
- Eau distillée	1 000 gr

Ajuster le Ph à 6,8.

Au moment de l'emploi, faire fondre au bain-marie bouillant, puis refroidir à 48° C et ajouter stérilement les solutions stériles suivantes :

- . émulsion de jaune d'oeuf pour obtenir une concentration finale de 50 %.
- . solution de tellurite de potassium pour une concentration finale de 0,1‰ .

Le milieu ainsi obtenu est coulé extemporanément et aseptiquement en boîte de Petri.

Onensemencera trois boîtes par souche, à l'aide d'une suspension dense de la souche à tester dans de l'eau physiologique stérile, en employant la technique d'épuisement de la semence comme suit :

Dans la première boîte, déposer une goutte de la suspension dense de la souche à étudier, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, puis étaler, à partir de la goutte au moyen d'un rateau de verre stérile, sans recharger le rateau suivant la technique d'isolement classique, la première moitié de la boîte, ensuite 1/4, 1/4.

Passer aussitôt la première boîte achevée, à la suivante, et de la deuxième boîte à la troisième sans recharger le rateau.

Les boîtes ensemencées sont portées à l'étuve pour une incubation à 37° C durant 24 heures, puis 48 heures.

Note : Le milieu vierge, coulé en boîte de Petri, ne doit pas être stocké plus de 48 heures au réfrigérateur à +4° C. Ce délai passé, il ne convient plus à la

pratique du test de Baird-Parker. Parmi les milieux sélectifs au jaune d'oeuf pour l'identification des staphylocoques pathogènes : milieu de Baird-Parker, de Zebovitz, etc..., le milieu de Baird-Parker présentait sur le milieu de Zebovitz avec tellurite de potassium les avantages suivants (85) :

Le milieu de Zebovitz est trop sélectif, au point d'empêcher la croissance de certains staphylocoques pathogènes (II).

La présence de pyruvate de sodium et de jaune d'oeuf dans le milieu de Baird-Parker comme stimulants de croissance corrige ce défaut. En outre, l'émulsion de jaune d'oeuf intervient comme réactif de diagnostic. Le milieu de Baird-Parker n'est pas inhibiteur vis-à-vis des staphylocoques pathogènes, cependant, il l'est suffisamment pour empêcher la croissance de la plupart des autres bactéries.

Les quelques organismes qui peuvent pousser occasionnellement sur ce milieu, par exemple les staphylocoques saprophytes, donnent des colonies qui ne peuvent pas prêter à confusion.

RECHERCHE D'UNE PENICILLINASE

D'une manière systématique pour chaque souche, nous avons utilisé le test de GOTS rapporté par BAUDENS (14 a).

Principe -

Une souche de staphylocoque peut produire une pénicillinase qui inactive la pénicilline G.

La matérialisation du phénomène est réalisée par la croissance d'une souche comme "*Sarcina lutea*" (ATCC 9341, coll. I.P. 5345.) . On mesure la surface de la zone de croissance après un temps d'incubation déterminé, ce qui donne une idée de la richesse en enzyme.

Technique -

Le milieu utilisé est de la gélose pour antibiogramme, (provenant de l'Institut Pasteur) ; il répond à la formule suivante :

- Extrait Liebig	10 gr
- Eau distillée	1 000 gr
- Peptone pancréatique (type SC)	6 gr
- Gélose	20 gr
- Glucose pur	2 gr

Ajuster le Ph à 7.

Faire dissoudre la peptone dans le mélange eau + extrait Liebig, mettre la gélose et porter à l'autoclave 30 minutes à 120° C.

Au sortir de l'autoclave, ajouter le glucose, agiter et filtrer sur filtre mou. Répartir en flacons de 45 ml, stériliser 20 minutes à 110° C à l'autoclave.

Au moment de l'emploi, faire fondre le contenu des flacons au bain-marie bouillant. Quand le milieu est liquide et que sa température a atteint 45° C, on incorpore aseptiquement de la pénicilline G*, plus

* Dans notre expérience, il a été utilisé du Benzyl pénicillinate de sodium cristallisé - Rhône Poulenc -

exactement une solution de son dérivé sodé pour obtenir une concentration finale de 0,01 unité oxford par millilitre, à 10 millilitres de gélose pour antibiogramme. Agiter pour homogénéiser. Incorporer alors 1 ml d'une dilution au 1/10^e d'une culture de 24 heures de *Sarcina lutea* sur bouillon coeur-cervelle. Agiter de façon à bien répartir la dilution de *Sarcina* dans tout le milieu. Celui-ci est prêt à être coulé en boîte de Petri.

Après solidification de la gélose, on creuse stérilement une cupule de 10 mm de diamètre que l'on remplit à l'aide de 0,1 ml d'une culture de staphylocoque à étudier ; cette culture de staphylocoque doit avoir 16 heures d'incubation à 37° C. On peut ainsi étudier 4 souches différentes de staphylocoque par boîte de Petri.

On laisse incuber 16 heures à 37° C. Au bout de ce temps, si la souche produit de la penicillinase, on observe une zone circulaire de croissance de *Sarcina lutea* dont on peut mesurer le diamètre.

TABEAU II - METHODES UTILISEES

	DNASE	CHAPMAN	COAGULASE	PHOSPHATASES		BAIRD-PARKER	PNASE
				Acide	Basique		
SUBSTRAT	A.D.N.	Mannitol	plasma de lapin oxalaté	α naphthyl-phosphate acide-sodique	P. nitrophényl phosphate	Jaune d'oeuf	Pénicilline G
PH	7,4 à 8	6,8		5	8	7,5	7
ρ	37° C	37° C	37° C	37° C	37° C	37° C	37° C
t	24 h	24 h	24 h max.	30 mn	30 mn	24 h et 36 h	16 h
MILIEUX	spécial B.B.L. ou B-D MERIEUX	milieu de Chapman	bouillon pour staphylo-coagulase de l'I.P.	eau dist. stérile		spécial oxoid	gélose pour antibiogramme de l'Institut Pasteur
REACTIFS	HCL : 1/N ou bleu de Toluidine à 0,1 %	rouge de phénol		orthodianizidine bis diazotée	P. nitrophénol soude 1 N Tampon Tris	Jaune d'oeuf + Tellurite de K : 3,5 %	Sarcina lutea diluée au 1/10e dans l'eau dist. stérile
REACTION	HCL : transparence autour de la strie (réaction +) bleu de Toluidine : virage au rose autour de la strie (réaction +)	coloration virage au jaune du milieu. germe a poussé tout le long de la piqure	coagulation du mélange de plasma de lapin - bouillon pour staphylo-coagulase	coloration rouge violacé immédiate si réaction + coloration jaune si réaction -	coloration jaune si réaction + reste incolore si réaction -	colonies noires + zone de précipitation et d'éclaircissement si réaction +	zone de croissance de la Sarcine si réaction +

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats -

Nos résultats sont consignés dans un système de tableaux à double entrée à la manière de DESNUES et Coll (31) pour chacune des 154 souches que nous avons à notre disposition.

Dans le tableau III, les résultats sont exprimés en chiffres bruts.

Dans le tableau IV, ceux-ci sont traduits en pourcentages.

Dans le tableau V, à l'image de MOUSTARDIER et Coll. (62), nous avons réparti les souches en fonction de cinq critères que nous avons retenus pour l'identification d'un staphylocoque à potentiel pathogène.

Sur 154 souches, les tableaux III et IV montrent :

- 126 coagulase positive, soit	82 %
- 135 Chapman positif, soit	87 %
- 141 DNase positive, soit	92 %
- 124 phosphatase positive, soit	81 %
- 110 Baird-Parker positif. soit	71 %
- 136 PNase positive, soit	91 %

D'autre part, 28 souches sont coagulase négative soit 18 % de l'ensemble.

Le tableau V fait apparaître 87 souches qui sont positives pour les cinq tests effectués, une seule souche est entièrement négative. 66 souches présentent des caractères dissociés.

Ces données générales doivent être comparées entre elles pour permettre une interprétation objective. Car si l'on tient compte de l'unique souche dont tous les caractères sont négatifs, laquelle correspond indiscutablement à un staphylocoque non pathogène, une difficulté majeure réside dans l'identification des souches présentant des caractères dissociés.

Si nous étudions maintenant ces souches présentant des caractères dissociés, nous constatons que::

- Sur 27 souches à coagulase négative :

- . 19 sont DNase positive, soit 70 %
- . 13 sont Chapman positif, soit 46 %
- . 17 sont phosphatase positive, soit. 32 %
- . 9 sont Baird-Parker positif, soit . 32 %
- . 23 sont PNase positive, soit 82 %.

- Sur 12 souches à DNase négative :

- . 5 sont Chapman positif, soit 41 %
- . 4 sont coagulase positive, soit ... 33 %
- . 8 sont phosphatase positive, soit .. 66 %
- . 3 sont Baird-Parker positif, soit . 25 %
- . 10 sont PNase positive, soit 83 %.

- Sur 18 souches Chapman négatif :

- . 12 sont DNase positive, soit 66 %
- . 4 sont coagulase positive, soit .. 22 %
- . 15 sont phosphatase positive, soit 83 %
- . 5 sont Baird-Parker positif, soit 28 %
- . 16 sont PNase positive, soit 88 %.

- Sur 29 souches à phosphatase négative :

- . 20 sont DNase positive, soit 69 %
- . 26 sont Chapman positif, soit 89 %
- . 19 sont coagulase positive, soit .. 62 %

- . 19 sont Baird-Parker positif , soit 62 %
- . 26 sont PNase positive, soit 89 %.

- Sur 43 souches Baird-Parker négatif :

- . 31 sont DNase positive, soit 72 %
- . 27 sont Chapman positif, soit 62 %
- . 22 sont coagulase positive, soit .. 51 %
- . 27 sont phosphatase positive, soit 62 %
- . 35 sont PNase positive, soit 81 %.

T A B L E A U I I I

RESULTATS GENEVAUX

	NOMBRE DE SOUCHES 154	DNASE +	CHAPMAN +	COAGULASE +	PHOSPHATASE +	BAIRD-PARKER +	PNASE +
+ DNASE -	141 13	141 0	130 5	122 4	117 8	130 3	125 10
+ CHAPMAN -	135 19	130 12	135 0	125 4	104 15	105 5	118 16
+ COAGULASE -	126 28	121 19	123 13	126 0	108 17	104 9	113 23
+ PHOSPHATASE -	124 30	117 20	104 26	108 19	124 0	94 19	108 26
+ BAIRD-PARKER -	110 44	110 31	105 27	104 22	94 27	110 0	101 35
+ PNASE	136	125	118	113	108	101	136

	NOMBRE DE SOUCHES : 154	DNASE +	CHAPMAN +	COAGULASE +	PHOSPHATASE +	BAIRD-PARKER +	PNASE +
+ DNASE -	92 8	92 0	84 3	79 2	76 5	84 2	88 12
+ CHAPMAN -	87 13	84 8	87 0	82 2	67 9	68 3	76 10
+ COAGULASE -	82 18	79 13	88 2	82 0	70 11	67 6	72 14
+ PHOSPHATASE -	81 19	76 12	67 16	70 13	81 0	60 13	70 16
+ BAIRD-PARKER -	71 29	84 20	68 17	67 15	60 17	71 0	65 22
+ PNASE -	91 9	88 12	76 10	72 7	70 7	65 8	91 0

Discussion -

DNase et Coagulase :

La valeur de la coagulase semble à peu près unanimement reconnue (31).

BLAIR, jusqu'ici, considérait même que la coagulase était le seul critère de pathogénicité sérieux.

Cependant, BUTTIAUX (II) rappelle que d'assez nombreux staphylocoques pathogènes ayant été au contact prolongé d'antibiotiques, peuvent parfois perdre leur coagulase, mais que leur DNase semble constante. Déjà, en 1964, ELSTON et FITCH (37) signalent que les staphylocoques perdent leur capacité de coaguler le plasma de lapin oxalaté (à la suite de mutation), et parfois même d'autres caractères bactériens. D'autre part, LI et KAPRAL (54) notent qu'au cours d'infections expérimentales chez le lapin, ils n'ont pas toujours trouvé une bonne corrélation entre la production d'une coagulase et la virulence des staphylocoques.

En outre, THATCHER et SIMON signalent que des staphylocoques coagulase négative peuvent produire quelquefois une entérotoxine.

CHESBRO et AUBORN (25) soulignent le synchronisme qu'il y a entre la production d'une DNase et celle de l'entérotoxine A., ils constatent que la sensibilité de la détection de la DNase est en tout point comparable à la sensibilité de la recherche sérologique de l'entérotoxine A.

Il est intéressant de remarquer que sur les 27 souches coagulase négative, 19 étaient DNase positive et 13 Chapman positif ; 17 phosphatase positive, 9 Baird-Parker positif.

La corrélation entre l'activité coagulase des staphylocoques pathogènes et la production d'une DNase est assez étroite, certains auteurs la signalent très étroite. ELSTON et FITCH trouvent que sur 177 souches **de staphylocoques dorés**, 176 ont une coagulase et 175 une DNase, soit 99,4 % et 98 %.

D.D. NAI et coll. (63), sur 150 souches de microcoques et de staphylocoques, testent quantitativement l'activité DNasique ; ils constatent que sur les 50 souches de staphylocoques dorés qui sont toutes coagulase positive, il y a également 50 DNase positive.

PAPAVANGELOU G. et coll. (67), sur 328 souches de staphylocoques, trouvent eux aussi une très bonne concordance entre l'activité DNasique et coagulasique.

MALMBORG (55), sur un matériel de 110 souches de staphylococcus aureus et 65 souches de staphylococcus albus, constate un parallélisme presque parfait, mais note une seule souche coagulase positive qui est DNase négative.

DI SALVO, quant à lui, nous rapporte qu'il n'a rencontré que de très rares souches coagulase positive, DNase négative.

WECKMAN et CATLIN (80), sur 87 souches de staphylocoques, en comparant quantitativement l'activité coagulasique avec l'activité DNasique, remarquent un rapport étroit entre les deux activités, une seule souche coagulase négative avait une très forte activité DNasique.

JACOBS, WILLIS et GOODBURN (45), sur 1 467 souches signalent une bonne corrélation entre coagulase et DNase.

La recherche simultanée des deux enzymes nous a donné les résultats suivants :

. 141 souches DNase positive	92 %
. 126 souches coagulase positive	82 %

Tableau III et IV

Parmi les 126 souches coagulase positive, 121 sont DNase positive , soit 96 % ; notons en même temps que sur les 141 souches DNase positive, 122 sont coagulase positive.

Cependant, parmi les 27 souches coagulase négative, 19 sont DNase positive, soit 70 %, alors que sur 13 souches DNase négative, seulement 4 souches sont coagulase positive, soit 30 %.

Nous constatons qu'il y a davantage de souches possédant une DNase que de souches élaborant une coagulase ; constatation que nous retrouvons chez les auteurs précités ainsi que chez MOUSTARDIER (62). Nous ne pouvons pas dire qu'il existe un parallélisme parfait entre DNase et coagulase.

Chapman fermentation :

Pour P. DESNUES et coll.(31), la fermentation du mannitol sur milieu de Chapman semble être un caractère moins important car un pourcentage non négligeable de staphylocoques coagulase négative fait fermenter le mannitol et inversement certains staphylocoques coagulase positive n'attaquent pas ce glucide.

Déjà EVANS (38) en 1947, préconisait de rechercher l'attaque du mannitol en anaérobiose. En effet, sur milieu de Chapman, la fermentation du mannitol, conduite de cette manière, permet d'éliminer le sous-groupe VI des staphylocoques, selon BAIRD-PARKER, qui sont des germes saprophytes attaquant le mannitol en aérobie, par oxydation, mais ne le fermentant pas.

Dans ces conditions, il existe une nette corrélation entre DNase, Chapman et coagulase (avis que partage PAPA VANGELOU et coll.(67) confirmée par les résultats suivants :

135 souches Chapman positif dont :

- 130 sont DNase positive, soit	84 %
- 125 sont coagulase positive, soit	82 %
- 104 sont phosphatase positive, soit ..	67 %
- 105 sont Baird-Parker positif, soit .	68 %

Nous avons aussi, sur 18 souches Chapman négatif :

- . 12 DNase positive
- . 15 phosphatase positive
- . 5 Baird-Parker positif
- . 4 coagulase positive.

Ces résultats ne sont pas en contradiction avec les travaux de MOUSTARDIER (62), et les constatations

de MOSSEL (61) et PRE CECHTEL F. (71)

"que la réaction est très rarement positive quand les tests principaux sont eux négatifs."

Constatation que ne partagent pas MORTENSEN et coll. (60) qui n'ont pas trouvé de corrélation satisfaisante entre la DNase et l'attaque anaérobie fermentative des sucres, mais il ne semble pas qu'ils aient utilisé de la même manière les milieux sucrés.

Phosphatases :

L'intérêt de leur recherche comme critère de confirmation a eu pour point de départ, les travaux de Barber et Kuper, en 1951 (12). Ces auteurs ont trouvé que les souches à coagulase positive élaborent ces enzymes en plus grande quantité que les souches à coagulase négative ; notion qui a été vérifiée depuis, par de nombreux auteurs. CANNON F. D et coll. (19).

BAL (11), sur 317 souches de staphylocoques, constate que 209 souches à coagulase positive sont aussi à phosphatase positive, soit 100 %. Mais que, sur 108 souches à coagulase négative, 75 sont à phosphatase positive, soit 69 %, et 33 souches sont à phosphatase négative, soit 30 %.

CAPOCACCIA (20) met en évidence un parallélisme satisfaisant entre le pouvoir pathogène de 95 souches de staphylocoques (confirmé in vivo, par les lésions qu'ils déterminent chez les malades) et leurs activités phosphatasiques, coagulase et fermentative du mannitol.

DLABAG (34), avec 257 souches de staphylococcus pyogènes et 191 souches de staphylococcus epidermidis montre que l'activité phosphatasique est beaucoup plus élevée pour les staphylocoques pyogènes que pour les staphylococcus epidermidis. Il trouve cependant une souche de st. epidermidis, produisant une forte quantité de phosphatases.

KARAKASEVIC et coll. (50) étudient 350 souches de staphylocoques, et trouvent un parallélisme très satisfaisant entre la production de phosphatases et celle d'une coagulase.

KIEDZIA (51) rapporte que sur 158 souches de staphylocoques dorés isolés de malades et de porteurs sains, la production de phosphatase est plus intense pour les staphylocoques isolés de malades présentant des lésions cliniques.

MARINELLI et coll. (56) notent une correspondance presque parfaite entre la production de phosphatase et de coagulase ainsi qu'avec d'autres tests de pathogénicité.

WHITE et coll (82) signalent une bonne corrélation entre l'activité phosphatasique et l'activité coagulase. Pour ces auteurs, l'activité phosphatasique est aussi valable que celle de la coagulase, l'une et l'autre se recoupant parfaitement. L'avantage de la phosphatase sur la coagulase est de ne pas utiliser de liquide physiologique et de se lire après un temps d'incubation plus court.

Nous avons obtenu, pour l'ensemble des 154 souches : 124 sont productrices de phosphatases, soit 83 %. De ces 124 souches :

- 117 ont une DNase positive, soit 94 %
- 104 ont un Chapman positif, soit 83 %
- 108 ont une coagulase positive, soit .. 86 %
- 94 ont un Baird-Parker positif, soit . 77 %

Mais pour les 27 souches à coagulase négative, 17 élaborent des phosphatases ; pour les 29 souches à phosphatases négatives, 19 ont une coagulase positive. Tous ces faits recourent sensiblement les travaux des auteurs précités et sont en accord avec la statistique proposée par PAKULA et coll. (65).

Nous constatons une identité des résultats entre ceux de la phosphatase acide et ceux de la phosphatase alcaline. Les 124 souches productrices de "Phosphatase" l'ont été chacune pour les deux simultanément. Ainsi, notre observation concorde en tout point avec celles de CARASSUS (21).

Nous n'avons pas trouvé, comme certains auteurs ont voulu le signaler, de correspondance aussi parfaite avec les autres critères de pathogénicité. Elle

est cependant relativement satisfaisante. La recherche des phosphatases reste fort précieuse quand l'un des tests princeps manque.

Activité lécithinasique et lipasique sur milieu de Baird-Parker :

La réaction au jaune d'oeuf que nous avons pratiquée sur le milieu de Baird-Parker mettrait en évidence une activité lipasique d'après Richou (72) et lécithinasique d'après DESNUES et coll. (31).

CLUZEL et coll. (26), sur 120 souches de staphylocoques, trouvent 97 souches à coagulase positive dont 92 sont Baird-Parker positif.

Moustardier et coll. (62), constatent que sur 257 souches de staphylocoques, 207 ont une réaction positive sur milieu au jaune d'oeuf. Sur 153 souches à DNase positive, 85 % sont positives sur milieu au jaune d'oeuf, 135 souches à coagulase positive, 88 % sont à lécithinase positive.

Dans un travail effectué par Dorozhkova (35), 88 % des souches à coagulase positive sont lécithinase positive tandis que 98 % des souches à coagulase négative sont lécithinase négative.

Nous avons constaté que 110 souches sont Baird-Parker positif, sur un total de 154 souches, soit 71 %. Parmi ces 110 souches,

- | | |
|---|-------|
| - 110 sont à DNase positive, soit | 100 % |
| - 105 sont Chapman positif, soit | 90 % |
| - 104 sont à coagulase positive, soit ... | 90 % |
| - 94 sont une phosphatase positive, soit | 85 % |

Nos résultats recoupent sensiblement ceux des auteurs cités ci-dessus.

Le milieu de Baird-Parker représente un test intéressant pour l'identification de souches à caractères biochimiques dissociés.

La Pénicillinase :

La comparaison de l'activité pénicillinasique avec les principaux tests biochimiques retenus comme critère

de pathogénicité d'un staphylocoque, fait apparaître que d'après nos résultats, 136 souches sur 154 sont à Pénicillinase positive, soit 91 %, dont :

- 125 sont à DNase positive, soit 92 %
- 118 sont à Chapman positif, soit 86 %
- 113 sont à coagulase positive, soit ... 83 %
- 108 sont à phosphatase positive, soit . 79 %
- 101 sont à Baird-Parker positif, soit . 74 %

Mais, sur les 12 souches à DNase négative, 10 possèdent une pénicillinase sur 18 souches à Chapman négatif, 16 sont à Pénicillinase positive ; sur 27 souches à coagulase négative, 23 sont productrices de PNase.

Certains auteurs comme AMSTERDAM et coll (5), BLUMENTHAL et coll (16), EYCKMANS et coll (39), constatent qu'il existe une relation certaine entre la production de pénicillinase in vivo et la virulence d'un staphylocoque mais cette relation n'est pas très nette, ce que soulignent nos résultats de l'expérimentation in vitro. (49)

Nous pensons que la recherche de la pénicillinase n'a qu'une valeur de statistique, comme l'ont montré récemment les travaux de CHABBERT et coll. (24)(52).

Au terme de notre étude sur la détermination du potentiel pathogène d'un staphylocoque, nous avons retenu cinq critères de base qui ne sont pas tous d'égale valeur.

Nous distinguons trois critères fondamentaux :

- DNase
- Chapman
- Coagulase,

deux critères accessoires :

- Phosphatase
- Baird-Parker,

Leur positivité ou leur négativité permettant d'éliminer les cas douteux, c'est-à-dire, les souches à caractères biochimiques dissociés.

Quant à la Pénicillinase, elle n'a qu'une valeur de statistique. Partant de ces considérations, nous avons classé (tableau V)

A - comme souches de staphylocoque à potentialité pathogène :

- a) en premier lieu, toutes celles pour qui les cinq tests étudiés sont positifs. Nous avons trouvé 87 souches, soit 57 %.
- b) ensuite, celles auxquelles il manque un seul critère secondaire : vingt-neuf souches.
- c) celles qui possèdent trois critères fondamentaux et aucun critère secondaire : trois souches répondent à ce type.
- d) les souches qui possèdent deux critères fondamentaux sur trois et les deux critères secondaires : nous en avons trouvé également trois.
- e) celles qui possèdent deux critères fondamentaux sur trois, et un seul critère accessoire : quatre souches sont de cette catégorie.
- f) nous avons également retenu comme souches pouvant être pathogènes, des souches présentant un seul critère fondamental sur trois, accompagné des deux critères accessoires ; quatre souches sont de ce type ; et celles possédant deux critères fondamentaux sur trois et aucun critère secondaire : trois souches ont été trouvées.

B - souches présumées non pathogènes :

- a) ce sont, en premier, celles qui ont été négatives pour l'ensemble des tests étudiés. Nous n'en avons trouvé qu'une seule.
- b) celles qui ne présentent qu'un seul critère fondamental sur trois et aucun critère secondaire : cinq souches répondent à cette définition.
- c) celles qui n'ont qu'un seul critère fondamental sur trois et un seul critère accessoire sur deux ; quatre souches ont été trouvées.

- d) celles qui ne possèdent aucun critère fondamental mais uniquement deux critères secondaires ; nous en avons trouvé trois.
- e) celles qui ne possèdent pas de critère fondamental mais un seul critère secondaire ; c'est le cas de cinq souches.

REPARTITION DES SOUCHES EN FONCTION DE CINQ CRITERES RETENUS

	NOMBRE DE SOUCHES 154	%	DNASE	CHAPMAN	COAGULASE	PHOSPHATASE	BAIRD-PARKER
SOUCHES PRESUMÉES PATHOGÈNES	87)	57	+	+	+	+	+
	15)	10	+	+	+	+	-
	14)	9	+	+	+	-	+
	3)	2	+	+	+	-	-
	2)	1	+	+	-	+	+
	1)	0,5	+	-	+	+	+
	3)	2	+	+	-	-	+
	3)	2	+	+	-	-	-
	4)	2,5	+	-	-	+	+
	1)	0,5	-	+	+	+	-
SOUCHES PRESUMÉES NON PATHOGÈNES	3)	2	-	+	+	-	-
	1)	0,5	-	-	-	-	-
	3)	2	-	-	-	+	+
	1)	0,5	+	-	-	-	-
	5)	3	-	-	-	+	-
	4)	2,5	-	+	-	-	-
	2)	1	-	-	+	+	-
	2)	1	+	-	-	-	+
	1)	0,5	-	-	-	-	-
	3)	2	-	-	-	+	+

Il se dégage de l'ensemble de cette étude les faits suivants :

Les réactions biochimiques qui servent à tester la potentialité du pouvoir pathogène d'une souche de staphylocoque n'ont pas toutes la même valeur (17).

Trois critères fondamentaux sont à retenir ; nous les avons classés par ordre d'importance décroissante :

- DNase
- Chapman
- Coagulase.

Ils sont d'exécution simple, pratique et relativement rapide. Leur recherche doit être systématique et permet déjà un triage efficace des cas limites. La présence d'une DNase semble beaucoup plus constante que celle de la coagulase (II) et associée à l'attaque du mannitol en anaérobiose sur milieu de Chapman, signale bien la potentialité du pouvoir pathogène.

Quoique les rapports entre DNase, Chapman et coagulase ne soient pas d'un parallélisme rigoureux, la triple positivité semble le signe certain de la pathogénicité d'un staphylocoque. Les deux critères accessoires, phosphatases et Baird-Parker sont de valeur égale. Ils sont d'un grand secours, lorsque la présence d'un des critères fondamentaux fait défaut. Leur positivité liée à celle d'une DNase seule, ou d'un Chapman seul permet un diagnostic valable.

La recherche du lysozyme semble, selon GROGZGEBAUER (42), plus révélatrice que la plupart des critères communément admis. Elle n'est pas encore entrée dans la pratique de routine, les méthodes sont loin d'être uniformisées. De toute façon, le critère absolu reste à trouver.

CONCLUSIONS

La définition du pouvoir pathogène d'une souche de staphylocoque reste encore aujourd'hui sujette à discussion. La cohabitation de souche de staphylocoques saprophytes et de staphylocoques pathogènes au niveau des muqueuses de même que dans de nombreux prélèvements pathologiques replace journallement le bactériologiste devant les risques d'erreur dans l'affirmation du caractère pathogène de telle ou telle souche. Parmi les nombreuses méthodes proposées pour définir *in vitro* le pouvoir pathogène potentiel d'une souche, un certain nombre d'activités enzymatiques ont été proposées comme critères.

C'est ainsi que nous avons étudié quelques unes de ces activités chez 154 souches de staphylocoques provenant de produits pathologiques divers (hémocultures, pus, urines, sellès, prélèvements du tractus respiratoire, conjonctivites).

Sur chaque souche, ont été recherchées l'activité désoxyribonucléasique, la fermentation du mannitol en anaérobiose dans le milieu de Chapman, la présence d'une coagulase libre vis-à-vis du plasma de lapin oxalaté, la présence d'une phosphatase acide, la présence d'une phosphatase alcaline, les activités lipasique et lécithinasique sur milieu de Baird-Parker, l'ensemble de ces tests constituant à l'heure actuelle des méthodes bien précisées.

Les résultats que nous avons obtenus, comparés à ceux publiés par de nombreux auteurs, nous ont permis de penser qu'il est possible à l'aide des cinq critères énumérés ci-dessus (la phosphatase acide et

la phosphatase alcaline donnant des résultats superposables ont été confondues en un seul résultat) d'éliminer en grand partie les difficultés d'identification d'une souche.

Parmi ces cinq critères, trois semblent majeurs : la DNase, la fermentation du mannitol en anaérobiose, la coagulase, par rapport aux deux derniers : présence d'une phosphatase et activité lipasique ou lécithinasique sur milieu de Baird-Parker.

Parmi les critères majeurs, la coagulase demeure un excellent test de pathogénicité mais la présence d'une désoxyribonucléase semble en voie de prendre le pas sur la précédente tant il est vrai que d'authentiques staphylocoques pathogènes, certes en petit nombre, ne possèdent pas de coagulase.

Les souches présentant au moins deux caractères majeurs ou un caractère majeur et deux caractères mineurs peuvent être considérées comme des souches de staphylocoques à potentiel pathogène.

Il semble donc que nous disposions ainsi de méthodes enzymatiques bien codifiées qui permettent, dans un délai fort acceptable, d'établir in vitro le caractère pathogène d'un staphylocoque. Certes, cette affirmation ne prendra un caractère absolu que confrontée à la clinique, mais, n'est-ce pas là la condition sine qua non de toute la microbiologie médicale ?

Vu le 9 avril 1969

Le Président de Thèse

R. VAURS

Vu et Permis d'Imprimer

N° Ph. 2/69

le 10 avril 1969

Le Doyen

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ABRAMSON C. and FRIEDMAN H.
"Enzymatic activity of primary isolates of staphylococci in relation to antibiotic resistance and phage type".
J. Infect. Dis. 1967, 117, 3, 242-248.
- 2 - ACAR J.F.
"Les Staphylocoques"
Concours med. Fr. 1967, 89, 44, 7239-7241-7242, 7245-6.
- 3 - AGARWAL D.S. et COLL.
"Bacteriophage typing and antibiotic sensitivity of staphylococcus pyogenes"
Indian-Journal Med. Res. 1963, 54, 851-858.
- 4 - AKMAN M.
"Lysozyme production capability of staphylococci and it's correlation with some other criteria for pathogenicity. Results obtained with 300 strains of staphylococci and 168 strains of other pathogenic and saprophytic bacteria".
Mikrobiol. bult. 1967, 1, 4, 206-228 Ankara.
- 5 - AMSTERDAM D. and SCHNEIERSON S.S.
"Relation ship between penicillin susceptibility and virulence of staphylococcus aureus".
Proc. Soc. exp. biol. (N.Y.) 1957, 96, 750-752
- 6 - ARMANI G. and BERTINI V.
"On the value of some identification tests for pathogenics staphylococci".
Boll. Ist. Sieroter. Milan 1966, 45, 9-10, 466-471.

- 7 - BAIRD-PARKER A.C.
"Staphylococci and their classification".
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1965, 128, 1, 4-25
- 8 - "The occurrence and enumeration, according to a new classification of micrococci and staphylococci in bacon and on human and pig skin".
J.Appl.Bact. G.B. 1962, 15, 3, 351-361
- 9 - "A classification of micrococci and staphylococci based on physiological and biochemical tests".
J. Gener. microbiol.G.B.1963,30,3,409-427
- 10 - "An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase positive staphylococci".
J.Appl.Bact. 1962, 25, 1, 12-19.
- 11 - BAL A.
"Phosphatase reaction of staphylococci isolated from ocular lesions".
J.Indian Med.Assoc.1965, 45, 9, 490-491.
- 12 - BARBER M. and KUPER S.W.
"Identification of staphylococcus pyogenes by the phosphatase reaction".
J.Path.bact., L XIII, 65-68
- 13 - BASTIN R., WORMS R. et ACAR J.
"Traduction chimique de la résistance hétérogène des staphylocoques aux pénicillines et aux céphalosporines".
Path.biol. 1967, 15, 1205-1211.
- 14 - BAUDENS J.G. et CHABBERT Y.A.
"Données fondamentales sur la bactériologie des staphylocoques et leur comportement vis-à-vis des antibiotiques."
Revue du Praticien 1968, XVIII, 1.
- 14 a - BAUDENS J.G., BOYER F., CHABBERT Y.A.
"Relation entre la sensibilité in vivo et in vitro des bactéries à la Penbritine et leur production de Pénicillinase".
Ann. Inst. Pasteur, T.103, 1962, p 335-344

- 15 - BLAIR J.E.
"What is a staphylococcus".
Bact. Rev. 1962, 26, 375-381.
- 16 - BLUMENTHAL H.J., YUE-LIANG-PAN.
"Acid phosphatase production by mercuric ion
or penicillin resistant and sensitive staphylococcus
aureus".
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. U.S.A.
1963, 113, 2, 322-326.
- 16 a - BASTIDE P., BODON J. et coll.
"Phosphatase, acide et alcaline".
Path. biol. 1961, 9, 1089.
- 17 - BORTOLINI and CHECCHI E.
"Variabilit  dei piu comuni tests per la pato-
genicit  dello stafilococco in successivi con-
trolli".
Arch. Ital. Sci. Med. Trop. 1960, 41, 545-554.
- 18 - BURNS J. and HOLTMAN D.F.
"Biochemical properties of virulent and aviru-
lent staphylococci".
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1960, 115-124.
- 19 - CANNON F.D., HAWN C.V.Z.
"Phosphatase activity of staphylococcus aureus
correlation with enzyme production and peni-
cillin resistance and lysotype".
J. Bact. U.S.A. 1963, 86, 5, 1052-1056.
- 20 - CAPOCACCIA L.
"L'uso dei tests della fosfatasi, della coagulasi,
della mannite, come criterio della patogenicit 
degli stafilococchi".
Arch. Ital. Sci. Med. Trop. 1956, 37, 438-449
- 21 - CARASSUS J., LEFRANC et GUILLAUME S.
"Recherche des phosphatases des staphylocoques"
Ann. Inst. Past. 1966, 103, 57-64 (Lille)

- 22 - CARUSO G.
"Sulle caratteristiche di patogenicità di ceppi di stafilococco aureus isolati in ambiente ospedaliera".
Acta. Med. Ital. Mal. Infett. 1960, 15, 261-264.
- 23 - CHABBERT Y.A., BAUDENS J.G.
"Souches résistantes à la méthicilline".
Ann. Inst. Paris 103, 22-230
- 24 - CHABBERT Y.A., BOUANCHAUD D. et BAUDENS J. G.
"Résistance extra-chomosomique chez les entérobactéries et les staphylocoques".
Path. Biol. 1967, 15, 23-24, 1173-1178.
- 25 - CHESBRO W.R., AUBORN K.
"Enzymatic detection of the growth of staphylococcus aureus in foods".
Appl. Microbiol. U.S.A. 1967, 15, 5, 1150-1159
- 26 - CLUZEL R., JOUVE P., CLUZEL M., VAURS R.
"Intérêt du milieu de Baird-Parker dans l'identification des staphylocoques pathogènes";
C.R. Soc. Biol. de Clermont-Fd 1967, 161, 1569.
- 27 - COURTIEU AL. DORCHE G.
"Le staphylocoque et le bactériologiste"
Vie Med. 1966, 45, 1515-1526.
- 28 - COWAN S.T.
"Introduction to chaos and classification of micrococci and staphylococci".
J. Appl. Bact. G.B. 1962, 25, 3, 324-340
- 29 - CREYSEL J.
"L'hospitalisme chez les brûlés".
1er colloque européen sur l'hospitalisme du 2 et 3 décembre 1966 p. 109.

- 30 - DELCAMBE L.
"Préparation d'une DNase du staphylocoque en culture submergée".
Revue des fermentations et industries alimentaires, p. 73-74.
- 31 - DESNUES P., MOUSTARDIER G., NIETO GOURRIBON
"Considérations basées sur l'étude bactériologique de 625 souches de staphylocoques."
- 32 - DINEEN P.
"La staphylopénicillinase, son rôle dans la résistance à la pénicilline. Caractérisation biologique in vitro".
S Surg. Res. U.S.A. 1964, 4, 178-182.
- 33 - DISALVO J.
"Studies on desoxyribonuclease of staphylococcus aureus".
Med. Tech. Bull. 1958, 9, 191.
- 34 - DLABAG V.
"Quelques caractéristiques sur la phosphomono-estérase acide produite par des souches de microcoques et de staphylocoques."
J. Hyg. Epidémiol. Microbiol. Immunol. CRECHOSL. 1965, 9, 1, 60-66.
- 35 - DOROZHKOVA I.R.
"The lecithinase Reaction as one of the Tests for determination of pathogenicity of staphylococci".
Microbiol. Lab., centr.Inst. of Tb, USSR Min. of Publ. HLTH, MOSCOW
Lab. DELO 1965, 5, 304-307.
- 36 - DU PASQUIER, DESNUES P., MOUSTARDIER G.
"Etude de 115 souches de staphylocoques isolées d'un centre de pneumo-phtisiologie".
Rev. Immunol. Thérap. antimicrob.
Fr 1965, 29, 3, 117-127.

- 37 - ELSTON H.R., FITCH D.M.
"Determination of potential pathogenicity of staphylococci".
Amer. J. clin. Path. 1964, 42, 346-348.
- 38 - EVANS J.B.
"Anaérobie fermentation of mannitol by staphylococci".
S. Bact. 1947, 54-266.
- 39 - EYCKMANS L., TROMPSETT R.
"In vivo studies on staphylococcal penicillinase".
S. Bact. U.S.A. 1965, 90, 3, 589-593.
- 40 - GILEPSIE WA., ALDER Y.G.
"Production of opacity in egg yolk media by coagulase positive staphylococci."
J. Path. Bact. 1952, 64, 187-200
- 41 - GOIGNARD P. et DESCUN P.
"Contamination intra-hospitalisée en neurochirurgie".
1er colloque européen sur l'hospitalisme,
2 et 3 décembre 1966, p. 112.
- 42 - GROGZGEBAUER (K), SCHMIDT B. et coll.
"Lysozyme production as an aid for identification of potentially pathogenic strain of staphylococci".
Applied. Microb. 16, n° 11, 1968, 1745-1747
- 43 - GUILLOTI A. et SPANO C.
"Phage typing of staphylococcus aureus from different sources".
Zbl. Bakt. I. Abt. orig. 1961, 181, 482-488.
- 44 - HIRSCH H.A.
"A propos des infections hospitalières en gynécologie et obstétrique".
1er colloque européen sur l'hospitalisme,
2 et 3 déc. 1966, p. 136.

- 45 - JACOBS S.L., WILLIS AT., GOOD BURN M.
"Pigment production and enzymatic activity of staphylococci".
J. Path. Bact. 1964, 87, 151-156 et 157-167
- 46 - JARVINEN K.A., KAHAMPAA A., RANTASALO I, FORTELIUS P.
"The incidence of hospital strains of staphylococcus aureus in the lungs of patients who died in the medical department."
Acta. Med. Scand. 1961, 170, 43-50
- 47 - JAY J.M.
"The relative efficacy of six selective media in isolating coagulase positive staphylococci from meats".
J. Appl. Bact. 1963, 26, 1, 69-74.
- 48 - JEFFERIES C.D., HOLTMANN D.F., GUSE D.G.
"Rapid method for determinating the activity of micro-organisms on nucleic acids".
J. Bact. 1957, 73, 590-591.
- 49 - KAMINSKI Z.C.
"Synthèse maximum de la pénicillinase du staphylocoque en l'absence de pénicilline".
J. Path. Bact. G.B. 1963, 85, 2, 528-529
- 50 - KARAKASEVIC B., GAZIKALOVIC Z.
"Phosphatase test in the differentiation between micrococcus pyogenes and no pathogenic species of micrococci".
Higijena 1955, 7, 263.
- 51 - KEDZIA W.
"Activité phosphatasique de souches de staphylocoque aureus coagulase + isolées de malades et de porteurs sains".
J. Path. Bact. 1963, 85, 528-529.
- 52 - KJELLANDER J.O., FINLAND M.
"Studies on penicillinase of staphylococcus albus".
Proc. Soc. exper. Biol. Med. U.S.A. 1963.
113, 4, 1031-1037.

- 53 - KRYNSKI S., KEDZIA W., BECLA E.,
KRASOWSKI A.
"Différences d'activité biochimique chez staphylococcus pyogènes prélevés dans les produits pathologiques et chez les sujets sains".
Ann. Inst. Pasteur 1962, 102, 231-235.
- 54 - LI I. et KAPPRAL F.A.
"Virulence and coagulase" of staphylococcus aureus.
J. Infect. D. 1964, 61, 494.
- 55 - MALMBORG A.S.
"Test de la DNase pour la recherche du pouvoir pathogène du staphylocoque".
Acta. Path. Microbio-Scand 1964, 61, 494.
- 56 - MARINELLI M., TONELLI E., VENTURI R.
"Activité phosphatasique et pouvoir pathogène du staphylocoque".
G. de Bact. et Viro. 1958, 51, 566-572.
- 57 - MERLE D'AUBIGNE R., MASSIAS P. et EVARD J.
"Risque de contamination hospitalière en chirurgie orthopédique majeure."
1er colloque européen sur l'hospitalisme,
2 et 3 déc. 1966, p. 128-129.
- 58 - MEYER W.
"Über die brauchbarkeit des coagulase testes mit verschieden en plasmaarten zur differenzierung von staphylococcus aureus."
Zentre bact. Parasitenk Abst. I Orig. 1966
201, 331-338.
- 59 - MONNIER J. et BOURSE R.
"Perspectives de l'antibiothérapie."
Rev. Praticien 1968, XVIII, 32, 4775-4782.
- 60 - MORTENSEN N., KOCUR M.
"Corrélation entre le test de la DNase et celui de la décomposition du glucose dans la différence entre staphylocoque et microcoque."
Acta. Path. Microbiol. Scand. 1967, 69, 3,
445-457.

- 61 - MOSSEL D.A.A.
"Essai de classification des staphylocoques et des microcoques catalase +".
J. Bact. U.S.A. 1962, 84, 6, 1140-1147.
- 62 - MOUSTARDIER G., DESNUES P. et MARTIN MC.
"Considérations sur les différents critères de pathogénicité des staphylocoques, basées sur l'étude in vitro de 253 souches isolées de produits pathologiques divers."
Path. Biol. 1968, 16, 23, 24, 1025-1037.
- 63 - NAI D.D.
"Recherches sur la DNase du staphylocoque".
Rapporto C.N.R. Università di Milano
p. 545-556.
- 64 - NIETO-GOURRIBON
"Le staphylocoque".
Thèse Méd. Bordeaux 1966, N° 526.
- 65 - PAKULA R., RABCYNSKA F., ZALESKA H.
"Statistiques appliquées à la phosphatase et à la coagulase du staphylocoque."
Med. Dosco. i Mikob. Varsovie 1953, 5, 71.
- 66 - PANTALEON J., ROSSET R., GANDON Y.,
PETIT A.
"Recherche et dénombrement des staphylocoques présumés pathogènes dans les aliments."
Ann. Inst. Pasteur Lille 1964, 15, 157-164.
- 67 - PAPA VANGELOU G., PAPA VASSILIOU J.
"Comparaison de l'activité DNasique avec d'autres critères du pouvoir pathogène du staphylocoque."
Path. et Microbiol. Suisse 1967, 30, 1, 59-63.
- 68 - PILLET J.
"Le staphylocoque hospitalier. Le pouvoir pathogène des staphylocoques et leur individualisation. Les enquêtes épidémiologiques."
Lyon Med. 1967, 217.

- 69 - "Méthodes de recherche des staphylocoques pathogènes."
Conférence du Dr. J. PILLET, Inst. Pasteur de GARCHES - Biol. Clinique, 24 nov. 1967, Paris.
- 70 - "Pouvoir pathogène et enquêtes épidémiologiques".
Premier colloque européen sur l'hospitalisme Paris, Maison de la Chimie, 2 et 3 déc. 1966, p. 160.
- 71 - PRECECHTEL F.
"Corrélation de quelques réactions biochimiques de virulence de staphylococcus aureus avec la production de coagulase."
Public. Fac. Sci. Univ. Purkyne Brno, 1962, 28, 438, 499-502.
- 72 - RICHOU R., QUINCHON, PANTALEON J.
"Sur la présence dans les filtrats de culture du staphylocoque, d'enzymes attaquant les lipides."
Rev. Immuno. 1960, 24, 496.
- 73 - ROSENDAL K. et BÜLOW P.
"Le staphylocoque doré isolé dans les hôpitaux Danois du 1er janvier 1961 au 31 décembre 1965."
Acta Path. Microbiol. Scand. 1967, 71, 422-438.
- 74 - SHAH D.B., RUSSELL K.E., WILSON J.B.
"Comparaison of 2 media for the detection of the egg yolk factor of staphylococcus aureus."
S. Bact. 1963, 85, 1181-1182;
- 75 - SHAH D.B., WILSON J.B.
"Egg yolk factor of staphylococcus aureus".
J. Bact. 1963, 85, 516-521.
1965, 89, 949-953.

- 76 - SELIGMAN J.S.
"Etude du variant pénicillase négatif".
Nature G.B. 1966, 209, 5027, 994-996.
- 77 - SIFRRA G.
"A simple method for determinating a lipolitic activity of micro-organism".
Antonte V. Leenvenboek 1957, 23, 15.
- 77 a - TATCHER F.S. et SIMON W.
Int. Bull. Bact. 1957, t. 7.,p. 21.
- 78 - VADEHRA D.V., HARMON L.G.
"Isolement et purification d'une lipase staphylococcique".
Appl. Microbiol. 1967, 15, 292-295.
- 79 - "Caractérisation d'une lipase staphylococcique".
Appl. Microbiol. 1967, 15, 480-483.
- 80 - VANDECASTEELE J., ROUVILLOIS CL., SOOTS G.
"Le problème vu des services de chirurgie et des spécialités chirurgicales."
1er colloque européen sur l'hospitalisme
Paris 2 et 3 déc. 1966, p. 45.
- 81 - VIC DU PONT, MONSALLIER J.F.
"Le problème vu des services de médecine et des spécialités médicales."
1er colloque européen sur l'hospitalisme
Paris 2 et 3 déc. 1966, p. 25.
- 82 - WECKMAN B.G., CATLIN B.W.
"Activité désoxyribonucléasique des microcoques provenant de souches cliniques."
J. Bact. 1957, 73, 747-753.
- 83 - WHITE M.L., PICKETT Ph. D.
"A rapid phosphatase test for staphylococcus aureus".
Amer. J. Clin. Path. 1953, 23, 1181.

- 84 - WILLIAMS R.E.O. et coll.
"Hospital infection"
I volume, 2e éd., Lloyd-Luke, Medical
Books, London 1966.
- 85 - WILLIS AT., JACOBS S.T., GOODBURNS G.M.
"Pigment production, enzymatic activity and
antibiotic sensitivity of staphylococcus",
Subdivision of the pathogenic group".
J. Path. Bact. G.B. 1964, 87, 1, 157-167.
- 86 - ZEBOVITZ E., EVANS J.B., NIVEN SR.
"A new medium for identification of pathogenic
strains of staphylococcus".
J. Bact. 1955, 70, 686.

OUVRAGES CONSULTÉS

- I - BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology
7e Edition ; p. 464-473
- II - Manuel de Techniques Bactériologiques
R. BUTTIAUX, H. BEERENS, A. TACQUET
Flamarion éditeur - 2e Edition 1966
P. 369-373
- III - Bactériologie Médicale
3e Edition 1968 ; p. 417-431
G. MOUSTARDIER
Librairie Maloine S.A. Paris VIe
- IV - BACTERIOLOGIE à l'usage des Etudiants en Médecine
1ère Edition 1969 - AZELE FERRON, éditeur
p. 84.

TABLE DES MATIERES

<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PLAN</u>	2 a
<u>ABREVIATIONS UTILISEES DANS LE TEXTE</u>	2 b
<u>CHAPITRE I</u>	
Les staphylocoques à potentiel pathogène et leur équipement enzymatique	3
<u>CHAPITRE II</u>	
Matériel et Méthodes utilisés	
Tableau I	13
Recherche de l'activité DNasique	16
Recherche de l'activité Phosphatasique acide	17
Recherche de l'activité Phosphatasique alcaline	19
Recherche d'une activité lécithinasique .	21
Recherche d'une activité penicillase ..	24
Tableau II	26
<u>CHAPITRE III</u>	
Résultats	27
Tableau III	30
Tableau IV	31
Discussion	32
Tableau V	41
CONCLUSIONS	43
BIBLIOGRAPHIE	I
OUVRAGES CONSULTES	XIII
